

## ベーチェット病と *Streptococcus sanguis* との関係

山口 昌子 横田 憲治  
札幌医科大学微生物学講座 (主任 小熊恵二 教授)

### Relationship Between Behçet's Disease and *Streptococcus sanguis*

Masako YAMAGUCHI and Kenji YOKOTA  
Department of Microbiology, Sapporo Medical College  
(Chief: Prof. K. OGUMA)

**ABSTRACT** DNAs were extracted from *Streptococcus sanguis*-like strains isolated from patients with Behçet's disease, and examined for their DNA homology to typed strains of *S. sanguis* purchased from American Type Culture Collection (ATCC). Some isolates showed high homology to ATCC 10557, but others, to some extent, showed homology to ATCC 10556.

Reaction of the patients' sera to different *Streptococcus* strains was then examined. The patients' sera demonstrated high antibody titers to some of the *Streptococcus* strains, especially to the organisms isolated from the patients with Behçet's disease, as compared with control sera. It was found that these patients' sera strongly reacted with 36KDa, 82KDa, and 87KDa proteins in cell wall fractions, and 80 to 150KDa proteins in membrane fractions, which had been obtained from the *S. sanguis*-like organisms isolated from Behçet's disease.

(Received March 28, 1991 and accepted April 8, 1991)

**Key words:** Behçet's disease, *S. sanguis*, Serum antibody titer, Classification (DNA homology test)

## I 緒 言

ベーチェット病 (以下 BD) は 1) 口腔粘膜の再発性アフタ性潰瘍, 2) 結節性紅斑様皮疹や血栓性静脈炎などの皮膚症状, 3) 前房蓄膿を伴う虹彩毛様体炎やぶどう膜炎などの眼症状, 4) 外陰部潰瘍, などを主症状とする難治性の慢性遷延性疾患である。BD の成因としては, 細菌, ウイルス, その他の微生物による感染説やアレルギー説, 膠原病説や自己免疫疾患説, あるいは農薬などの環境汚染物質による複合汚染説など, 多くの仮説が提唱されている。

近年, 患者には扁桃炎やう蝕歯などの既往症が多く, また, 抜歯や歯の治療などで発作が誘発されることなどから, 口腔内細菌, 特にレンサ球菌との関係が重要視されてきた。各種のレンサ球菌の死菌を抗原として皮内反応を試みたところ, BD 患者では陽性率が高く, かつ, 菌体接種により発作が誘発される例も認められた<sup>1)</sup>。また, レンサ球菌抗原を患者のリンパ球に作用さ

せると, IL-6 などのサイトカインが分泌され, 好中球やマクロファージが活性化されることが報告された<sup>2)</sup>。

我々も BD 患者, 原田病やサルコイドーシスなどの患者, あるいは正常人の口腔細菌叢を調べたところ, BD 患者からは, *Streptococcus sanguis* (*S. sanguis*) が有意に高率に分離されることを認めた<sup>3)</sup>。また, この分離される *S. sanguis* の菌数と, 患者の好中球活性とが相関することも認めた<sup>4)</sup>。鶴水らは, 川崎病の患者からも, *S. sanguis* 様の菌が多く分離されることを報告している。彼らはこれらの菌株の抗原性は, American Type Culture Collection (ATCC) で保存している *S. sanguis* の基準株の抗原性とは異なることを認め, MCLS-1, MCLS-2 と命名した<sup>5)</sup>。鶴水らとの共同実験で, BD 患者由来分離株の抗原性を検討したところ, これらの菌も ATCC の基準株とは異なり, MCLS-1 と類似するものや, それ以外にも数種類のものが存在することが明らかとなった<sup>3,6)</sup>。

他方, *S. sanguis* の分類は現在混乱している。細胞

壁のペプチドグリカンやタイコ酸の構造,あるいは菌体DNAの相同性試験などの結果から,ATCCで*S. sanguis*として登録されている10556, 10557, 10558の三菌株は,その性状が異なる故,それぞれ*S. sanguis*, *S. oralis*, *S. gordonii*と命名することが提唱されている<sup>7)</sup>.

本論文では,まずBDと川崎病患者より分離された株と,ATCC由来株のDNAの相同性を検討した.次いで,BD患者血清と各種の菌を反応させ,その抗菌抗体価を酵素抗体法により測定した.また,代表的な分離菌株より細胞壁成分と細胞質膜成分とを分画し,これら分画と患者血清との反応をウェスタンブロット法で解析した.

## II 実験方法

### 2.1 使用菌株

BD患者および川崎病患者の口腔内より分離された株を用いた.代表株として,前者では113-20, 114-23, 118-1, 後者ではMCLS-1, MCLS-2と命名されたものを用いた.*S. sanguis*の基準株としては,ATCCより得た10556, 10557, 10558, ST-7を用いた.緒言で述べた通り,これらの菌株は,現在同一ではなく,10556は*S. sanguis*, 10557は*S. oralis*, 10558は*S. gordonii*という異なった菌種名をつけることが提唱されている.その他,*S. pyogenes* (WHO, T type 12), *S. mitis* (NCTC 3165), *S. salivarius* (ATCC 7073)を用いた.

鶴水らは,上記BDおよび川崎病患者由来株は,ATCC 10556, 10557, 10558やST-7のいずれとも抗原性が異なり,以下の様に分類されると報告している<sup>6)</sup>. 1)KTH-1群:MCLS-1および113-20, 2)KTH-2群:MCLS-2, 3)KTH-3群:114-23, 4)KTH-4群:118-1.

### 2.2 菌の生化学的性状

BD患者および川崎病患者より分離された*S. sanguis*株の生化学的性状を,API-STREP system (Montalieu Co., France)を用いて確認した.

分離菌株を血液寒天平板培地の一面に塗布し,増殖した菌を滅菌綿棒でかきとり,滅菌精製水2mlに均等に浮遊させ,マクファーランドNo.4以上の濃度(吸光度550nmで濁度1以上)の菌液を作製した.この菌液をAPI-STREP systemのキットに作用させ,生化学的性状を観察した.その他,菌の溶血性は血液(羊)寒天平板培地に塗布することにより,カタラーゼ産生性は,培養液を3%過酸化水素水と反応させることによ

り,オキシダーゼ産生性はインドフェノール法により測定した.

### 2.3 DNA 相同性試験

各菌株よりDNAを抽出し,その相同性をEzakiらの方法<sup>8)</sup>を一部変更して求めた.200mlのTodd-Hewitt Broth (Difco Lab., U. S. A.)で1晩培養した菌を,0.01 M Tris-HCl buffer (pH 8.0)で2回洗浄後,12% polyethylene glycol, 1 mg/mlのlysozymeを含む100 mlのTE buffer (0.01 M Tris-HCl, 0.01 M EDTA, pH 8.0)中に懸濁し,37℃,1時間反応させた.スフェロプラストになった菌を遠心により集菌し,3% SDSを含むTE bufferに再び懸濁し,60℃,30分で完全に溶菌させた.溶菌した液をPronase K (100 µg/ml), RNase (50 µg/ml)で,同時に60℃,30分間処理した後,フェノールクロロホルムにて除蛋白し,エタノール沈殿によりDNAを精製した.DNAをCoating buffer {2.7 mM KCl, 0.1 M MgCl加0.01 M phosphate buffered saline (PBS), pH 7.2}中に40 µg/mlの濃度に溶解し,100 µlずつ96穴ELISA用プレート(Coster Co., U. S. A.)に分注した.室温で24時間コーティングした後,bufferを除き,UV下で風乾した.反応に用いたプローブは,Digoxigenin-ELISA kit (Boehringer Mannheim, W. Germany)を用い,ランダムプライミングにより菌体DNAをDigoxigeninで標識して作製した.この標識したプローブを,500 µg/well (100 µl)ずつ,各菌体DNAを固相化した96穴プレートに分注し,42℃,24時間反応させた.洗浄後,Kitの中の抗Digoxigenin-アルカリフォスファターゼ標識抗体により,基質(25 mM P-ニトロフェニルリン酸ナトリウム)を発色させ,ODを測定し,相同性を次式により求めた.

$$\text{相同性\%} = \frac{\text{検索している菌体より抽出したDNAへの反応値}}{\text{プローブと同一の菌体より抽出したDNAとの反応値}}$$

(分子,分母とも陰性コントロールとの反応値を差し引いた値を使用した.陰性コントロールとして,菌体DNAの代りにニシンの精子DNAを固相化したものを用いた.)

### 2.4 菌体抗原の作製

培養菌体を0.01 M PBS (pH 7.2)で洗浄後,超音波破碎器により破碎した.6,000×g,20分遠心し,未破碎菌体を除いた.この上清をさらに20,000×gで30分遠心し,上清(可溶性成分;20 S抗原と命名,これは細胞質膜由来物質が主成分と推察される)と沈渣(細

胞壁成分, Crude Cell Wall, 以下 CCW) に分けた。多数の患者血清の抗菌抗体価を, 酵素抗体法で測定する時は, この 20 S 抗原を用いた。数人の患者血清との反応をウェスタンブロット法で解析する時は, さらにこの 20 S 抗原を Sephadex G 100 にかける, 最初に出現してくるピークを抗原 (Peak-1 と命名) として用いた (Fig. 1)。

### 2.5 患者血清中の抗菌抗体価の測定

抗菌抗体価を酵素抗体法より測定した。上記 20 S 抗原を蛋白量が  $4 \mu\text{g}/\text{well}$  になるように 0.05 M 炭酸バッファー (pH 9.6) で調整し, 96 穴 ELISA プレート (Coster Co., U. S. A.) に  $4^\circ\text{C}$ , 1 晩で固相化した。これに 1,000 倍に希釈した患者血清を  $50 \mu\text{g}/\text{well}$  加え, 室温で 1 時間反応させた。次いで 2 次抗体として, Peroxidase 標識抗ヒト IgG (DAKOPATTS, Denmark) を同様に反応させ, O-フェニレンジアミンを基質として室温で 15 分間発色後,  $492 \text{ nm}$  で比色した。

### 2.6 菌体の成分との反応性

Peak-1 抗原および細胞壁成分 (CCW) との反応性を, ウェスタンブロット法で解析した。CCW と Peak-1 抗原各  $2 \text{ mg}$  を,  $1 \text{ ml}$  の  $0.025 \text{ M}$  Tris-HCl (pH 6.8) -1% SDS-0.02% BPB-5%メルカプトエタノール中で,  $100^\circ\text{C}$ , 10 分間処理した。次いで  $12,000 \times g$ , 10 分間遠心し, その上清を  $100 \mu\text{g}/1 \text{ ml}$  の濃度で 10% アクリルアミドゲルにかけ,  $150 \text{ V}$ , 4 時間泳動した。泳動後, ニトロセルロース膜 (Bio Rad

$0.45 \mu\text{m}$ ) に  $200 \text{ V}$ , 18 時間処理により転写し,  $0.01 \text{ M}$  PBS (pH 7.2) で 3 回洗浄し, 10% スキムミルク加  $0.01 \text{ M}$  PBS (pH 7.2) で  $4^\circ\text{C}$ , 18 時間ブロッキングした。この膜を, 幅  $3 \text{ mm}$  のスリット状に切り, 10% スキムミルク加  $0.01 \text{ M}$  PBS (pH 7.2) で 100 倍に希釈したヒト血清と, 室温で 3 時間反応させた。0.05% -tween 20-0.01% PBS (pH 7.2) で洗浄し, さらに 2 次抗体として, 抗ヒトペルオキシダーゼ標識ウサギ IgG (DAKOPATTS, Denmark) を反応させ, 洗浄後, ジアミノベンチジンを基質として発色させた。

## III 成 績

### 3.1 菌の生化学的性状

BD 患者由来株 3 株: 113-20 (KTH-1), 114-23 (KTH-3), 118-1 (KTH-4), 川崎病患者由来株 2 株: MCLS-1 (KTH-1), MCLS-2 (KTH-2), および ATCC 由来株 4 株: 10556 (*S. sanguis*), 10557 (*S. oralis*), 10558 (*S. gordonii*), ST-7 の生化学的性状を検討した (Table 1)。全ての菌は, Leucine arylamidase (LAP) の産生と Lactose (LAC) の分解性が陽性であった。また, アセトインの産生 (VP), Hippurate の加水分解 (HIP), Pyrrolidonyl-arylamidase (PYRA),  $\beta$ -glucuronidase ( $\beta\text{GUR}$ ), Arginine dehydrolase (ADH) の産生, Ribose (RIB), L-Arabinose (ARA), Mannitol (MAN), Glycogen (GLYG) らの利用能, および  $\beta$  溶血性 ( $\beta\text{HEM}$ ) などの性状は全て陰性であった。これらの性状と Mitis-Salivarius 培地上でのコロニーの性状などから, 上記分離株は, *S. sanguis* (様) の菌であると結論された。その他の生化学的性状は各菌により異なっていたが, 全体的にみて ATCC 10557 と 10558, 113-20 と 114-23 は類似していた。

### 3.2 菌体 DNA の相同性

BD 患者由来株 3 株, 川崎病患者由来株 2 株, ATCC 由来株 4 株より DNA を抽出し, それぞれをラベルし, 互いに反応させ, DNA の相同性を調べた (Table 2)。また, これらの菌のプロープと JFCC 由来 *S. salivarius* の DNA との反応も検討した。陰性コントロールの反応値 (OD) は非常に低く 0.01 以下であった。これに対して, 同一菌株由来 (ホモ系) DNA の反応値は高く 1~2 程であった。ホモ系の値を 100% とし, 各菌の DNA との反応値を % で示した (Table 2)。この結果より, 各菌株間の DNA の相同性の平均値を求め, これら 9 株のお互いの関係を示したのが Fig. 2 である。*S. salivarius*, ATCC 10558 (*S. gordonii*),

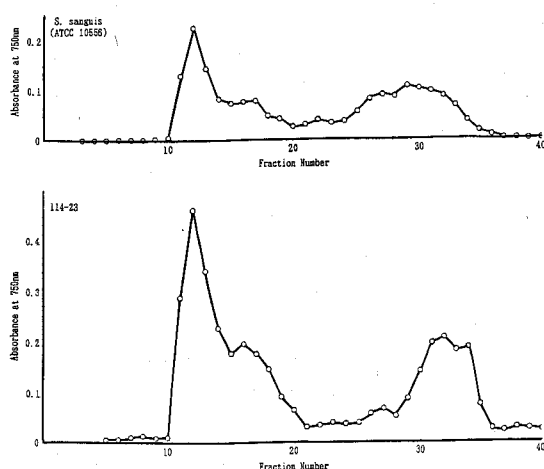


Fig. 1 Column chromatography of Sephadex G100. 20S antigens (10mg) of each strain were loaded on a Sephadex G100 column ( $2.2 \times 40 \text{ cm}$ ) equilibrated with  $0.05 \text{ M}$  PBS (pH 7.4). The column was eluted with the same buffer with flow rate of  $10 \text{ ml}/\text{min}$ , and  $5 \text{ ml}/\text{tube}$  was collected.

Table 1 Characteristics of *S. sanguis* (like) strains determined by API-STREP 20 system

strains	% prominent of positive reactions																		
	VP	HIP	ESC	PYRA	$\alpha$ GAL	$\beta$ GUR	$\beta$ GAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD
<i>S. sanguis</i>	-	-	V	-	V	-	V	V	+	V	V	-	-	V	V	V	V	V	V
ATCC 10556	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
ATCC 10557	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
ATCC 10558	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
ST-7	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
BD113-20	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
BD114-23	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
BD118-1	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
MCLS-1	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
MCLS-2	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-

V : variable

+ : positive

- : negative

Table 2 DNA homology test

Probe	1 0 5 5 6	1 0 5 5 7	1 0 5 5 8	S T   7	M C L S   1	M C L S   2	1 1 3   2 0	1 1 4   2 3	1 1 8   1
Coated DNA									
10556	100	20.8	19.5	10.9	56.8	44.6	52.1	10.6	47.0
10557	12.0	100	29.5	4.4	12.6	30.9	2.3	74.6	72.4
10558	27.5	32.1	100	6.5	18.7	8.6	6.0	35.5	30.7
ST-7	10.5	4.2	3.3	100	6.3	7.5	10.6	5.0	3.0
MCLS-1	64.6	26.0	13.9	3.5	100	53.1	48.0	7.9	15.4
MCLS-2	64.8	23.3	13.4	3.5	53.3	100	63.2	8.9	6.6
113-20	63.5	8.1	5.0	19.0	49.6	49.8	100	1.0	4.0
114-23	17.4	86.9	45.9	4.6	9.9	3.7	2.0	100	87.4
118-1	35.4	52.9	21.3	3.0	9.2	3.6	4.8	66.8	100

ATCC ST-7 とは高い相同性を示す菌は存在しなかったが、その他は ATCC 10556 (*S. sanguis*) に近いグループ；113-20, MCLS-1, MCLS-2, と, ATCC 10557 (*S. oralis*) に近いグループ；114-23, 118-1 とに分かれた。

### 3・3 患者血清中の抗菌抗体価の測定

*S. pyogenes* (WHO, T type 12), *S. salivarius* (ATCC 7073), *S. mitis* (NCTC 3165), *S. sanguis* (ATCC 10556) 及び患者分離株 113-20, 114-23, 118-1 の各菌体を、超音波で破碎した後遠心し、その上

清中に含まれる可溶化成分 (20 S 抗原) を 96 穴プレートに固相化した。これら抗原と 1,000 倍に希釈した患者血清を反応させ、酵素抗体法により抗菌抗体価を求めた (Fig. 3)。BD 患者 20 名、対象群として原田病、サルコイドーシス、健康人を各 10 名ずつ検討したところ、*S. pyogenes*, ATCC 10556 以外の菌においては、BD 患者群と対象群との間で反応に差が認められた。特に 113-20, 114-23 に対する吸光度の平均値はそれぞれ、BD 患者 0.125, 対象 0.076, および BD 患者 0.148, 対象 0.070 であり、BD 患者と対象群との間の差は著明

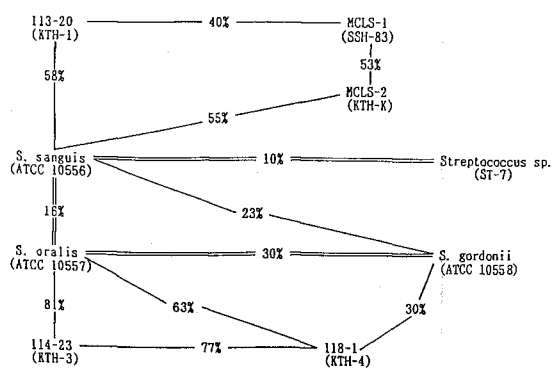


Fig. 2 DNA homology values between different *Streptococcus* strains. DNAs extracted from each strain were labeled, and DNA homology test was performed.

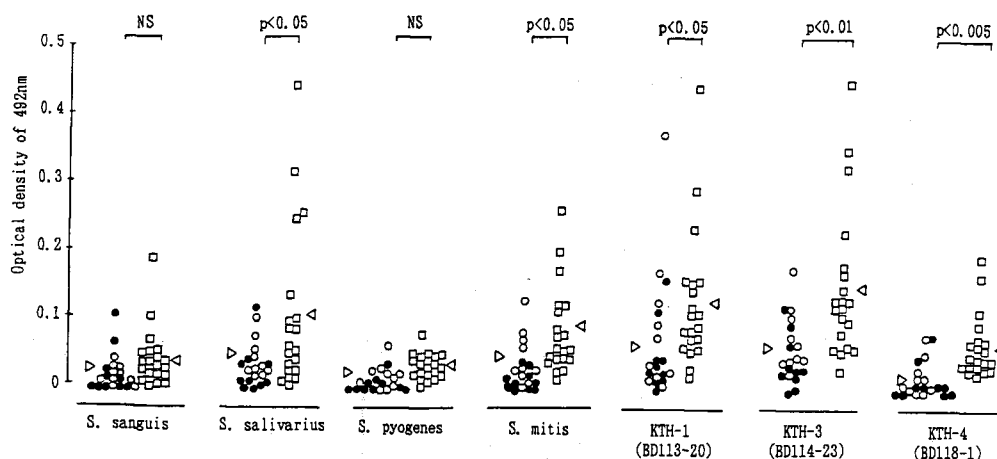


Fig. 3 ELISA with different strains and sera. Each serum was diluted to  $10^{-3}$  and then reacted with 20S antigens from different strains in ELISA plates. After the peroxidase conjugated second antibody and the substrate (DAB) were successively reacted, the OD values were obtained.

□, Behçet's disease; ○, VKH, Sarcoidosis; ●, Healthy; NS, no significance.

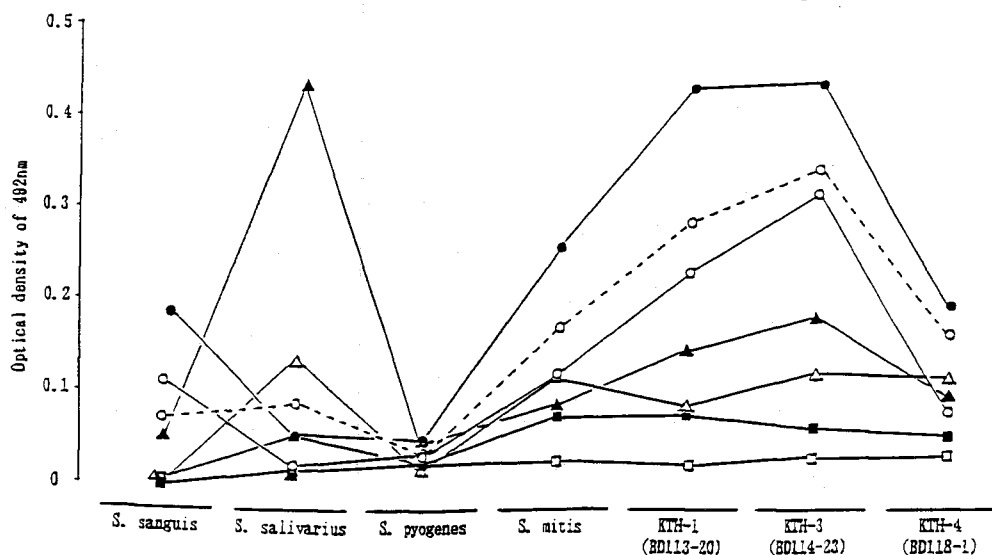


Fig. 4 Reaction of patients' sera to different *Streptococcus* strains. Seven patients' sera were diluted to  $10^{-3}$ , and then reacted with 20S antigens from different *Streptococcus* strains.

であった。これら両菌に対し、高く反応した血清と、あまり反応しなかった血清を計7例選出し、各種の菌に対する反応性を調べてみると、BD患者分離株に高く反応した血清は、*S. salivarius* などにも良く反応する傾向が認められた (Fig. 4)。

### 3.4 菌体成分との反応性

酵素抗体法で高い力価を示した BD 患者血清と、菌体の可溶性成分 (Peak-1) と細胞壁成分 (CCW) との反応を、ウェスタンブロット法で解析した。また、対象として BD 患者で低力価の血清や、原田病やサルコイドーシスの患者血清を解析した。

菌株としては、*S. pyogenes* (WHO, T type 12), ATCC 10556 (*S. sanguis*), 113-20 (BD 患者分離株) を用いた。BD 患者血清で、患者分離株と強く反応したものは、113-20 の Peak-1 が示した 80~150 KDa の高分子量の抗原とよく反応した。また CCW では、36 KDa, 82 KDa, 87 KDa の抗原と良く反応した。代表的な例を Fig. 5, Fig. 6 に示した。これらの反応性は、Peak-1 及び CCW をプロナーゼ処理すると認められなかった。

## IV 考 察

BD 患者の口腔より分離された *S. sanguis* 様細菌の性状を、川崎病、原田病、サルコイドーシスなどの患者由来株、健康人由来株、ATCC で *S. sanguis* として保存されている代表的な4株と比較した。分離菌株は、糖分解能などの生化学的性状では、これまで報告されている *S. sanguis* のものとあまり変わらなかった。

近年、ATCC で、*S. sanguis* として保存されていた 10557, 10558, ST-7 は、その DNA や細胞壁の性状から、基準株 10556 とは同一の菌種とは言い難いという説が提唱されてきた。これまでの *S. sanguis* の生化学的性状には、“variable (不定)” という項目が多かったが、この理由は異なった種 (species) の菌株を同一の菌種とみなしていたためとも考えられる。分離菌株の分類をよりはっきりさせるため、菌体 DNA の相同性を検討した。

BD 由来株 113-20 と川崎病由来株 MCLS-1, MCLS-2 は、ATCC 10556 (*S. sanguis*) と 40~55% 程、BD 由来株 114-23, は ATCC 10557 (*S. oralis*)

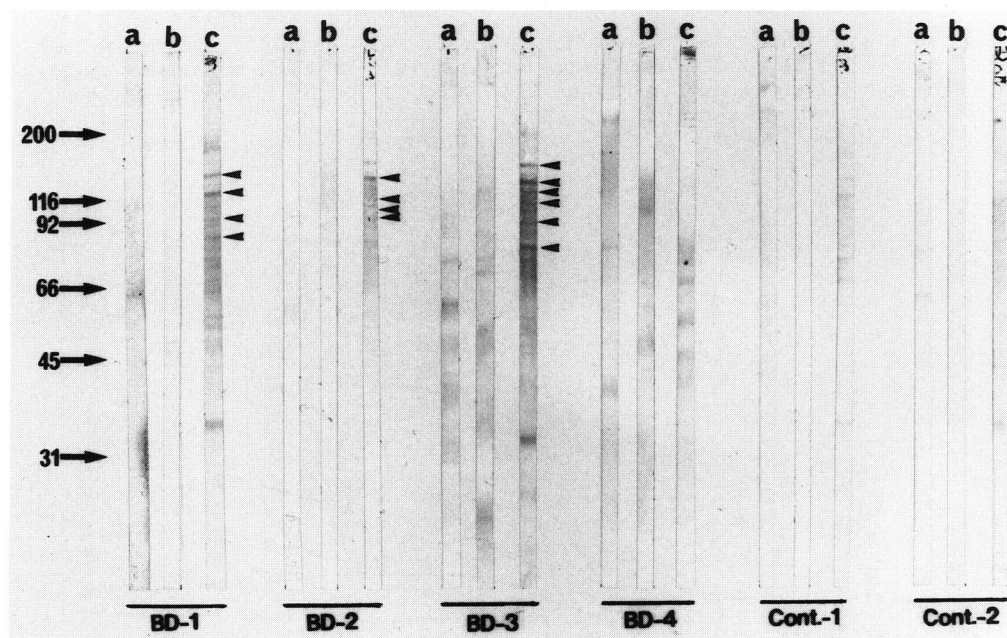


Fig. 5 Western blotting test. The sera obtained from four BD patients and two controls were reacted with Peak-1 antigens prepared from (a) *S. pyogenes* (WHO, T-12); (b) *S. sanguis* (ATCC 10556); (c) *S. sanguis* (113-20).

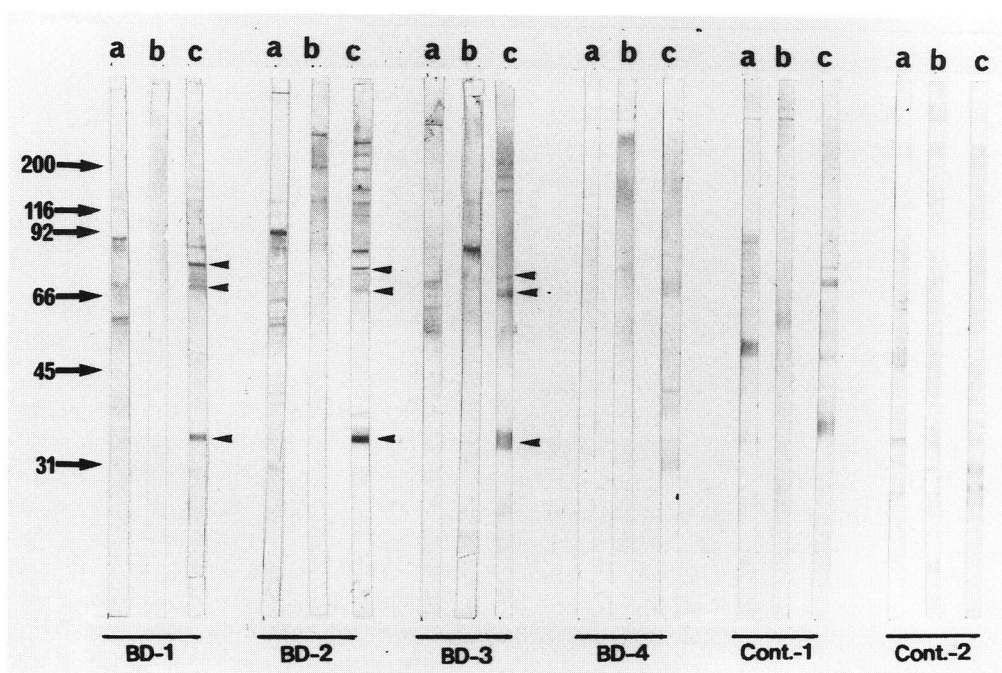


Fig. 6 Western blotting test. The sera were reacted with Crude Cell Wall antigens prepared from three different strains, (a) *S. pyogenes* (WHO, T-12); (b) *S. sanguis* (ATCC 10556); (c) *S. sanguis* (113-20).

と約80%, 118-1は63%の相同性を示した。菌のDNA分類の場合, 70%以上の相同性を示す場合は“同種”, 70~60%の相同性を示す場合は“亜種”, 60~20%の場合は近縁の種と考えられているので, 113-20は10556 (*S. sanguis*)の近縁の種, 114-23と118-1は10557 (*S. oralis*)の同種および亜種と結論された。これらの結論は鶴水らによっておこなわれた血清学的分類や, API-STREPシステムで調べた菌の生化学的性状の類似性とは異なっていた。今後これらの菌のペプチドグリカンやタイロ酸の構造を決定し, DNAによる分類法と一致するか否かを検討したい。

BD患者は, *Streptococcus*の各種の菌に対し, 感作された状態であると報告されているので, 患者血清中の抗菌抗体価をELISA法で測定した。我々のデータでも, BD患者は, *S. pyogenes*, ATCC 10556以外の菌に対し, 対象群よりも高い抗体価を示した。113-20株の細胞壁成分と細胞質膜成分を用いたウェスタンブロット法の解析により, ELISA法で高力価を示したBD患者では, 前者の36 KDa, 82 KDa, 87 KDa抗原と, 後者の80~150 KDa抗原と良く反応することが判明した。これらの反応は, 各抗原をブローネゼ処理すると

消失したことから, 蛋白抗原が重要であると結論された。

BDと川崎病の患者口腔から, 類似した菌が分離され, かつ, BD患者ではその菌に対して高い抗体価を示すヒトが多いことが判明した。最も重要な問題は, これらの菌がBDの発症と関係しているか否かということである。再発性の口内炎をおこす結果として, このような菌が増殖し, 抗体価が上昇したとも考えられる。この点を解決するまで, 慎重な検索が必要と思われる。

## V 結 論

ペーチェット病患者の口腔内より分離した *S. sanguis* 様菌株よりDNAを抽出し, 数種類の口腔内レンサ球菌のDNAと, その相同性を比較した。患者分離株中にはATCC 10557に高い相同性を示すものと, ATCC 10556に約50%の相同性を示すものが存在していた。

患者血清中の抗菌抗体価をELISA法で測定したところ, 対象群と比較し, 特に患者分離株に対する抗体価が高かった。菌の細胞壁および細胞質膜の各成分との反応では, 前者の36 KDa, 82 KDa, 87 KDa抗原と, 後者の80~150 KDa抗原と強く反応した。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり実験の遂行，論文の作成に際し直接御指導をいただきました小熊恵二教授に深謝致します。また，実験方法に関し，種々御教示いただきました東日本学園大学口腔衛生学講座 磯貝恵美子先生に深謝致します。

## 文 献

1. 水島 裕： ペーチェット病の原因は連鎖球菌か， **日医新報** 第3456号 27-31 (1990)。
2. 水島 裕： ペーチェット病に関する研究： 厚生省特定疾患ペーチェット病調査研究班，平成元年度研究業績集 36-37 (1990)。
3. Isogai, E., Ohno, S., Takeshi, K., Yoshikawa, K., Tsurumizu, T., Isogai, H., Yokota, K., Kotake, S., Sasamoto, Y., Hashimoto, T., Shimizu, H., Matsuda, H., Fujii, N., Yamaguchi, M. and Oguma, K.: Close Association of *Streptococcus sanguis* Uncommon Serotypes with Behçet's Disease. **Bifidobact. Microflora** 9, 27-41 (1990)。
4. Isogai, E., Ohno, S., Kotake, S., Isogai, H., Tsurumizu, T., Fujii, N., Yokota, K., Yamaguchi, M., Matsuda, H. and Oguma, K.: Chmoluminescence of neutrophils from patients with Behçet's Disease and its correlation with an increased proportion of uncommon serotypes of *Streptococcus Sanguis* in the oral flora. **Arch. Oral Biol.** 35, 43-48 (1990)。
5. 武内可尚，渡辺 淳，野川孝之，木村和弘，由井郁子，篠原 治，安倍 隆，篠塚 徹，田口暢彦，小佐野 満，鶴水 隆，中村直吉，橋本 喬，堀田昌宏： MCLS 患児歯垢から分離された *Streptococcus sanguis* (特異型) 菌株と MCLS 発症との関連性について。 **感染症誌** 61, 1141-1147 (1987)。
6. 水島 裕： ペーチェット病に関する研究，厚生省特定疾患ペーチェット病調査研究班，昭和63年度研究業績集 20-20 (1989)。
7. Coykendall, A. L.: Classification and Identification of the Viridans Streptococci. **Clin. Microbiol. Rev.** 2, 315-328 (1989)。
8. Ezaki, T., Hashimoto, Y., Takeuchi, N., Yamamoto, H., Liu, S. L., Riura, H., Matsui, K. and Yabuuchi, E.: Simple genetic method to identify viridans group Streptococci by colorimetric dot hybridization and fluorometric hybridization in microdilution wells. **J. Clin. Microbiol.** 26, 1708-1713 (1988)。

別刷請求先：

(〒060) 札幌市中央区南1条西17丁目

札幌医科大学微生物学講座 山口昌子